

Bírálati vélemény

Sugár István: "Sejt és lipid membrán struktúrák. Az elektromos-, termális- és kémiai kölcsönhatások szerepe"

című MTA doktori értekezéséről

Témaválasztás

A biológiai membránokban zajló életfolyamatokat a mai napig nem tudjuk leírni a megértésükhöz szükséges teljes tér- és időbeli felbontással. Ezért a membránok biofizikai kutatásában nagyon fontosak a biomembránok kísérleti és elméleti modelljei. Az értekezésben bemutatott kutatási eredmények a membrán biofizika tudományterületére esnek. Az utolsó téma esetében ez tágabb értelemben igaz, mert az a sejtek közötti jeladás és a sejtek geometriája közötti kapcsolattal foglalkozik. A szerző fő módszere a - főleg statisztikus fizikán alapuló - modellezés és a számítógépes szimuláció. Több elméleti modellt dolgozott ki, amelyeket minimum modelleknek tekint. Ez alatt azt kell érteni, hogy egy-egy kiválasztott jelenség értelmezéséhez megalkotott modellje a lehető legegyszerűbb, de olyan, ami még képes a jelenség lényegét reprodukálni, és minden elemére szükség van ahhoz, hogy kísérletileg is ellenőrizhető legyen. A modellezett jelenségek - elektroporáció, kétkomponensű lipid membránok termodinamikai viselkedése, fehérjék membránfelszíni adszorpciója, sejtmembránok közötti kémiai kölcsönhatás - sejtbiológiai és biofizikai alapkutatási szempontból is fontosak, és némelyiknek ígéretes alkalmazásai is lehetnek. A kiválasztott témák nem csak a munka megkezdésekor voltak aktuálisak, hanem ma is azok.

Szerkezet, forma, nyelvezet

A téziszűzet magyar, az értekezés angol nyelven íródott. Mindkettő megfelel a formai követelményeknek. A szerző az eredményeket a fő tézispontonként tárgyalja, ami azt jelenti, hogy külön bevezetőt, az eredményeket bemutató és diszkutáló részeket írt a fő fejezetekhez. Kivétel az első két fő tézispont, amelyek egy fejezetbe kerültek. Igen hasznos, hogy a számolások után közérthetően is összefoglalta az eredményeket. A szakirodalmi hivatkozásokat a fejezetek szerint csoportosítva az értekezés végén gyűjtötte össze. A kiválasztott jelenségek elméleti megközelítése és annak leírása logikus gondolkodásmódot, az elméleti háttér alapos ismeretét és körültekintő, elegáns, sőt virtuóz alkalmazását tükrözi. A szöveg nyelvezete világos, jól követhető.

Új eredmények

A szerző 5 fő tézispontba rendszerezte új eredményeit, a vizsgált jelenségek ill. az alkalmazott elméleti módszerek szerint csoportosítva. A tézispontok alpontjaiban sorolja fel a részeredményeket. A fő tézispontokban az alábbi eredményeket részletezi:

1. Kifejlesztette a membránokban kialakuló pórusok sztochasztikus, ún. blokk modelljét, amellyel leírta az elektroporáció jelenségét, és amelynek továbbfejlesztésével értelmezte a sejtmembránok elektrofúzióját is.
2. Kidolgozta az alacsony feszültségű elektroporátor fenomenológikus modelljét.
3. Monte Carlo módszerek alkalmazásával kidolgozta egy- és kétkomponensű lipid membránok Ising modelljét, amellyel sokféle kísérleti adatot (termodinamikai, fluoreszcenciás, mag mágneses rezonancia) sikerült értelmeznie, elsősorban a membránok fő fázisátmenetével és a membrán domének viselkedésével kapcsolatban. Összehasonlította a monomer és dimér membrán modelleket, elsősorban a membrán domének viselkedése szempontjából.
4. Modelllezte és értelmezte a kolipáz adszorpcióját diacilglicerol/foszfolipid keverékből készült egyrétegű membránokon.
5. Kidolgozta a hámsejtek alkotta felület egy, a korábbinál realisztikusabb modelljét és tanulmányozta a mikrovillusok pakoltsága sűrűségének hatását a hámsejtek autocrine/paracrine kémiai jeladásának valószínűségére.

A felsorolt eredményeket - valamennyi tézispontot - olyan új kutatási eredményeknek fogadom el, amelyeket a szerző korábbi fokozata megszerzése után ért el (a kandidátusi címet 1980-ban nyerte el), és amelyek döntően az ő munkájának a gyümölcsei. A fenti eredményeket legnagyobbbrészt levelező, első- vagy egy szerzős közleményekben publikálta. Legjelentősebb eredményeinek az 1. és 3. tézispontokban leírtakat tartom.

Publikációk

A szerző tudományos eredményeiről eddig 66 (11 egy szerzős) teljes (lektorált vagy impakt faktoros) közlemény jelent meg. Az 5 legjelentősebb dolgozatából kettő egy szerzős közlemény. Tudományos közleményeit 720-szor idézték független szerzők. A független idézések legnagyobb része (690) a kandidátusi értekezés után írt cikkeire érkezett. Közleményeinek több, mint 90 %-a 1-5 szerzős (a legtöbb 1-3 szerzős). Van egy bejegyzett találmánya az európai találmányi hivatalnál. A tézispontokhoz kapcsolódóan 17 közleményében 1983 óta megjelent eredményeit mutatja be. Ezekben a közleményekben csak külföldi társszerző szerepel mellette. A szerző téziseiben felhasznált közleményeinek független idézettsége 269. Az 1. és 3. tézispontokban leírt munkáiból megjelent közlemények némelyike a szakterületen alapközleménynek tekinthető.

Kritikai észrevételek

- A tézisfüzet 2. oldalának alján a szerző felsorolja a membrán biofizikában kiterjedten alkalmazott kísérleti módszereket. Ezek közül hiányolom a Harden M. McConnell által bevezetett spinjelző

elektron paramágneses rezonancia (EPR) spektroszkópiát, amely technika éppen a membrán kutatásban teljessé vált ki. A lipid-fehérje kölcsönhatás sztöchiometriájáról és dinamikájáról éppen a spinjelző EPR technikának köszönhetően tudjuk a legtöbbet, többek között Derek Marsh kutatásainak köszönhetően, de a lipidek laterális diffúziójáról (pl. Jack Freed munkáiban) és a membránfehérjék szerkezeti vizsgálatairól (pl. Wayne Hubbel és James Hyde munkáiban) is nagy számú fontos közlemény jelent meg.

- A magyar nyelven írott tézisfüzetben van jónéhány bosszantó nyelvtani és gépelési hiba (pl. “kiszámoltam”, hiányzó pont a mondat végéről, sok helyen hiányzó vessző, “fenomenologikus”, “tanulmányoztam”, “mikrovillus” vs. “microvillus”, “elektrofúzióját”, “sejt membrán” vs. “sejtmembrán”, “sikkal”, “mig”, “amig”, “hámsejtek”, “kialakúlhatnak”, “disszipációjára”, “diffúzióját”, “alakul” - ez a felsorolás nem teljes). Nem mentség erre az a körülmény, hogy a szerző mintegy harminc éve külföldön él, mert ezeket a hibákat a nyomtatás előtti alapos átolvasással el lehetett volna kerülni.
- Értekezés, 12. oldal alja (apróság): Ha U_m definíciója szerint $d\langle a \rangle/dU$ maximumát jelenti, akkor nem meglepő, hogy az átlagos pórus méret, azaz $\langle a \rangle$, éppen U_m -nél változik legjobban. Az állítás a definíció következménye.
- Sajnos az értekezés általam olvasott nyomtatott változában nagyon sok ábrán fontos részletek hiányoznak. Ez valószínűleg másolási vagy nyomtatási hiba miatt van, ugyanis az elektronikus (PDF) változatban rendben vannak az ábrák. Ezzel szemben az utóbbiban gyakorlatilag használhatatlanok a képletek (talán csak az én számítógépemen, esetleg valami hibás font behelyettesítés miatt). Ezért egyszerre kellett olvasnom a nyomtatott és az elektronikus dokumentumot. A nyomtatott verzióban a 19. oldal rossz helyen van, és hiányoznak az 50., 53., 82. és 84. oldalak. Remélem, hogy a levéltárban tárolandó példányon mindez korrigálva lesz, mert így most mind a nyomtatott, mind az elektronikus változat nyomdatechnikai megjelenése méltatlan az elvégzett munkához.

Kérdések

- Az értekezés első fejezetéből (első két fő tézispont) egy olyan elméleti modell rajzolódik ki, amely nagyon sokrétű kvantitatív predikciókra képes. Ezzel szemben úgy tűnik, hogy a modell predikcióihoz képest kevés a citált kísérleti adat. Ha kevés volt a kísérleti adat a szakirodalomban, akkor nem merült-e fel az elméleti munka során (vagy azóta), hogy egy kísérletező csoportban, az elméleti modellhez maximálisan igazodó kísérleti modellmembrán rendszeren következetesen végigmérjék a modell által jósolt minél több jelenséget, és szisztematikusan összevessék az elméleti modellel?
- Kérem magyarázza meg, hogy az értekezés 22. oldalán az 1. egyenletben honnan jön az 1,5-ös

szorzófaktor. Azt gondolom, hogy a sejtnék a z tengely ($\theta = 0$) menti méretének megfelelő potenciálkülönbség gyakorlatilag a pólusokon esik: fele a felső, másik fele az alsó pólusnak megfelelő membrán darabon. Később a 31. oldal alján és a 32. oldal tetején a szerző is erről ír. Csakhogy eszerint a fenti képletben 1-nek kellene lennie az 1,5 helyén.

- 25. oldal: Mi az oka annak, hogy a modellben 100 nm-es membrán vastagsággal számolt? Ez még akkor is érdekes, ha kimutatta, hogy a reálisnál legalább tízszer nagyobb vastagságnak elhanyagolható a hatása az eredményekben. Talán a numerikus módszer nem működött jól reális vastagságú membránra?

- Az Ising modellben (a 3. fő tézispontához kapcsolódó munka) a láncok kölcsönhatása biztosítja a kooperativitást. Úgy tűnik, hogy bizonyos kísérleti adatok reprodukálásához elegendő abból kiindulni, hogy egy lipid lánc csak kétféle, gél vagy fluid állapotban lehet. Ugyanakkor NMR és EPR mérésekből is ismert a rendparaméternek a láncmenti változása (a membrán közepe felé növekszik a rendezetlenség). FTIR és más mérésekből pedig tudjuk, hogy a fő fázisátmenet körül széles hőmérsékleti tartományban nincs tiszta *gauche* vagy *all-trans* lipid lánc, egy láncban belül vannak *gauche* és *trans* láncszegmensek. Márpedig ha a láncoknak nagy a konformációs heterogenitása, akkor a fenti modell nagyon erős leegyszerűsítés. Valójában milyen fizikai kölcsönhatások vannak a kooperativitás mögött? Elképzelhető-e, hogy ha a láncok reálisabb konformációs leírásából indulnánk ki, és a szomszédos láncok konformációs csatlakozási kényszerét íránk le (pl. a *gauche* konformerek száma közötti különbség függvényében), akkor azt szintén lehetne úgy paraméterezni, hogy a modell visszaadja a kalorimetriás adatokat?

- A 3.9-es tézispontához kapcsolódóan (64-65. oldal), az eredmények megjelentetése óta végeztek-e a szakirodalomban kísérleteket ekvimoláris DMPC/DSPC keverékben abból a célból, hogy eldöntsék, hogy a membránoknak a kicsi vízdékony molekulákkal szembeni permeabilitását értelmező két elképzelés közül melyik a helyes?

- Általános kérdés a 4. fő tézispontához (ill. az értekezés 3. fejezetéhez) kapcsolódóan: Úgy gondolom, hogy a fehérjének a membránfelszíni adszorpciója nem csak attól függ, hogy amikor a felülethez érkezik, akkor van-e a alatta a kritikushoz nagyobb hidrofób felület, hanem attól is, hogy mennyi ideig létezik egy-egy ilyen felület. Ha mondjuk bármely időpillanatban a membránfelszín felét ilyen foltok teszik ki, de helyük nagyon gyorsan változik a fehérje transzlációs diffúziójához és a kötési kinetikájához képest, akkor kisebb lesz az adszorpció gyakorisága. Mind a megfelelő méretű szabad hidrofób felületek kialakulásának és eltűnésének kinetikája, mind a fehérje transzlációs diffúziója és kötési kinetikája függ a hőmérséklettől, de a hőmérséklet a kérdéses kísérletekben nem változott (tehát ezzel nem kellett foglalkozni). Ellenben a hidrofób felületek kialakulásának és eltűnésének kinetikája függhet a membrán kémiai összetételétől és a felületi nyomástól is (amelyek viszont

változtak). Okozhat-e ez az elhanyagolás eltérést az 76. oldal 4. ábráján bemutatott adatokban?

- Az 5. fő tézisponthoz kapcsolódóan, ha 2%-os csökkenés a mikrovillusok átmérőjében 2,5-szeresére növeli paracrine jeladás valószínűségét, akkor nem elképzelhető-e, hogy a modellben használt mikrovillus geometria helyett egy még realisabb geometriával egészen más eredmények jönnének ki?

Értékelés

Minthogy fenti megjegyzéseim és kérdéseim nem kérdőjelezzik meg a jelölt eredményeit, megállapítom, hogy Sugár István tudományos munkássága kielégíti az MTA doktora cím követelményeit. Javaslom tehát a dolgot nyilvános vitára bocsátását, és a jelöltnek az “MTA doktora” cím odaítélését.

Szeged, 2011 augusztus 15.

Dr. Páli Tibor
az MTA doktora, tudományos tanácsadó, csoportvezető
MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet